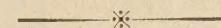


De la détection histochimique et historadiographique
du bismuth
introduit expérimentalement dans l'organisme



THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 10 novembre 1939

PAR

R. IMBERT

EXTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

Né le 29 octobre 1910, à Montpellier (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs
de la Thèse.

{ MM. TURCHINI, professeur, *Président*.
LAMARQUE, professeur.
HARANT, agrégé.
MONNIER, agrégé.

} *Assesseurs.*



MONTPELLIER
IMPRIMERIE LAFFITTE-LAURIOL, RUE COLLOT, 3

1939



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555601_0096

De la détection histochimique et historadiographique

du bismuth

introduit expérimentalement dans l'organisme

De la détection histochimique et historadiographique
du bismuth
introduit expérimentalement dans l'organisme

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 10 novembre 1939

PAR

R. IMBERT

EXTERNE DES HOPITAUX DE PARIS.

Né le 29 octobre 1910, à Montpellier (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examineurs
de la Thèse.

MM. TURCHINI, professeur, *Président*.

LAMARQUE, professeur.

HARANT, agrégé.

MONNIER, agrégé.

Assesseurs.

MONTPELLIER

IMPRIMERIE LAFFITTE-LAURIOL, RUE COLLOT, 3

1939

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs.

Anatomie.....	MM. J. DELMAS.
Histologie.....	TURCHINI.
Physiologie.....	L. HEDON.
Chimie biologique médicale et toxicologie.....	CRISTOL.
Physique médicale.....	PECH.
Anatomie pathologique.....	BAUMEL.
Microbiologie.....	LISBONNE.
Pathologie et thérapeutique générales.....	PAGES.
Thérapeutique et matière médicale.....	JANBON.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	PUECH.
Hygiène.....	CARRIEU.
Médecine légale et médecine sociale.....	VIDAL.
Pathologie médicale et clinique propédeutique.....	BOULET.
Clinique médicale.....	GIRAUD.
Clinique chirurgicale.....	RIMBAUD.
Clinique obstétricale.....	MASSABAU, assess.
Clinique des maladies mentales et nerveuses.....	RICHE.
Clinique des maladies des enfants et hygiène du premier âge...	P. DELMAS.
Clinique de dermatosyphiligraphie.....	EUZIERE, <i>doyen</i> .
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	BOUDET.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	MARGAROT.
Clinique gynécologique.....	ETIENNE.
Clinique ophtalmologique.....	JEANBRAU.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie maxillo-faciale.....	LAPEYRE.
Radiologie (ch. de c.).....	DEJEAN.
Anatomie (ch. de c.).....	TERRACOL.
Histologie (ch. de c.).....	LAMARQUE.
Propédeutique chirurgicale (ch. de c.).....	LAUX.
	GRANEL.
	AIMES.

Honorariat

Professeurs honoraires : MM. RODET, TÉDENAT, GALAVIELLE, FORGUE, ESTOR, BERTIN-SANS, BOSCH, VIREN, VILLARD, CABANNES et GRYNFELT.

Chargés de cours complémentaires.

Histoire naturelle médicale.....	MM. HARANT, agr.
Pathologie médicale et Clinique propédeutique médicale.....	BAUMEL, prof.
Clinique propédeutique médicale.....	P. RIMBAUD, agr.
Clinique des maladies contagieuses.....	JANBON, agr.
Clinique physiologique.....	VIDAL, prof.
Chirurgie expérimentale.....	GUIBAL, agr.
Pathologie externe.....	MOURGUE-MOLINES, ag.
Médecine opératoire.....	ROUX, agr.
Accouchements.....	CADERAS DE KERLEAU, agr.
Stomatologie.....	FERRIER, Dr.

Agrégés en exercice.

Bactériologie.....	MM. CARRÈRE.
Médecine.....	P. RIMBAUD.
	LAFON.
	BOUCOMONT.
Chirurgie.....	BERT.
	MOURGUE-MOLINES.
	GUIBAL.
	ROUX.
Urologie.....	TRUC.
Chimie.....	MONNIER, agr.
Obstétrique.....	CADERAS DE KERLEAU.
Parasitologie.....	HARANT.

Examineurs de la thèse.

MM. TURCHINI, professeur, président.	MM. HARANT, agrégé.
LAMARQUE, professeur.	MONNIER, agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.



A MA MERE ET A MON PERE

En témoignage de ma profonde affection.

A MES SŒURS

A TOUS MES AMIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR TURCHINI

PROFESSEUR D'HISTOLOGIE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

En témoignage de ma respectueuse reconnaissance.

A MON JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR LAMARQUE

PROFESSEUR DE RADIOLOGIE

DIRECTEUR DU CENTRE ANTICANCÉREUX DE MONTPELLIER

MONSIEUR LE DOCTEUR HARANT

PROFESSEUR AGRÉGÉ D'HISTOIRE NATURELLE MÉDICALE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

MONSIEUR LE DOCTEUR MONNIER

PROFESSEUR AGRÉGÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

A MES MAITRES DE LA FACULTE
ET DES HOPITAUX DE MONTPELLIER

A MES MAITRES DES HOPITAUX DE PARIS

INTRODUCTION

Le mécanisme de l'action thérapeutique du bismuth en syphiligraphie reste encore assez obscur. Il paraît exister une discordance entre ces deux faits, que d'une part, l'action du bismuth dans l'organisme est manifeste et radicale contre les lésions syphilitiques sensibles à ce médicament, et que, d'autre part, le tréponème peut vivre dans les solutions bismuthiques.

Il semble donc que le bismuth agisse davantage comme modificateur des réactions tissulaires que provoque le tréponème, que comme parasiticide.

Le but de notre travail n'est certes pas d'expliquer cette action thérapeutique, mais bien seulement d'essayer de franchir une simple étape vers ce but.

Il peut être en effet d'un grand intérêt, de parvenir à détecter le bismuth au sein des lissus.

Nous avons pensé, qu'il pouvait être intéressant, d'employer à la recherche de ce corps dans l'organisme certaines méthodes qui nous ont paru particulièrement appropriées.

Nous avons songé à l'histochemie et à l'historadiographie — histochemie, puisqu'il s'agit d'étudier, de rechercher, la présence d'un métal capable de donner des réactions chimiques bien déterminées, ainsi que d'étudier, concurremment, le tissu dans lequel il se

trouve — historadiographie, puisqu'il s'agit d'un métal à poids atomique élevé donc opaque aux rayons X.

Ces méthodes présentent expérimentalement de réels avantages car elles doivent permettre de suivre le bismuth, tout au long de sa traversée dans l'organisme. Elles permettent, en pratiquant des coupes de tous les organes où le bismuth est susceptible de s'être déposé, de savoir dans lesquels d'entre eux il s'est plus particulièrement fixé. Elles peuvent même, permettre d'apprécier les modifications tissulaires produites par le médicament. Ses possibilités sont donc étendues.

De plus la sensibilité d'une telle méthode, à condition de savoir en interpréter les résultats, est assez grande pour détecter des quantités minimales de ce métal.

Et c'est en nous inspirant de cette idée que nous avons été conduit à expérimenter ces méthodes, et à étudier la localisation du bismuth dans les principaux organes de l'économie.

Nous savions que le bismuth injecté sous forme de sel insoluble ne diffuse que très lentement, et qu'il est pendant un temps assez long fixé sur place au point d'injection d'où il ne se déplace qu'après des combinaisons protéiniques qui le rendent assimilable, mais cela toujours très lentement.

Au contraire, le bismuth soluble est absorbé avec une rapidité beaucoup plus grande et, partant, doit être plus facilement détecté dans les tissus.

C'est donc la sensibilité éprouvée de nos méthodes histochimique et historadiographique qui nous a conduit à rechercher dans les divers organes les très petites quantités de bismuth qui voyagent lentement en combinaisons organiques à travers les tissus. Nous avons obtenu des résultats positifs.

Le but essentiel de notre travail est donc de dé-

montrer la valeur expérimentale et la sensibilité de ces méthodes et c'est à exposer leur principe, à montrer leur technique ainsi qu'à interpréter les résultats obtenus que nous nous sommes efforcés de rédiger cette courte étude.

Nous n'avons pas en vue d'aller plus loin et n'espérons pas éclairer grandement le problème de la destinée du bismuth à travers l'organisme pas plus que nous n'avons prétendu rechercher ce métal partout où il pouvait être; le cadre de ce travail ne permettrait guère de résumer seulement les données actuelles sur la question.

Nous nous en tiendrons à exposer nos techniques et, à titre d'application, à exposer le résultat de nos recherches.

Ces recherches ont porté en premier lieu sur la détection du bismuth introduit par la voie intra-musculaire et comme nous le verrons dans notre exposé elles nous ont donné des résultats concluants.

Certain dès lors de la qualité de nos méthodes nous avons cherché en second lieu à les appliquer à la recherche du bismuth introduit par la voie digestive afin de retrouver la trace du bismuth métallique absorbé par cette voie sous forme de sels.

On sait la vogue que connaît depuis quelques années la thérapeutique bismuthique qui après avoir eu ses partisans et ses ennemis réunit à l'heure actuelle le suffrage de la plupart des gastro-entérologues.

On a beaucoup écrit sur le bismuth en gastro-entérologie et il faut bien avouer que les recherches expérimentales faites jusqu'à ce jour pour expliquer son mode d'action thérapeutique sont peu nombreuses et en tout cas n'ont pas donné de résultats vraiment précis. La médecine s'en est tenu à des notions assez

empiriques qui se résument à constater les bons effets des sels de bismuth (type sous-nitrate et carbonate principalement) et à fixer, la posologie de ces sels.

On a en effet relaté au début de l'ère radiologique des intoxications dues à l'absorption de fortes doses de sous-nitrate de bismuth employé comme repas opaque. Cet inconvénient ajouté à un deuxième d'un ordre plus matériel, si l'on peut dire, qui est le prix très élevé du bismuth, l'a fait abandonner par les radiologues.

Les sels de bismuth ne sont donc employés que comme agents thérapeutiques dans les maladies digestives et tous les médecins admettent leur non-toxicité aux doses couramment employées.

Quant à ces intoxications qui s'étaient manifestées à la suite d'ingestion de doses élevées de sous-nitrate de bismuth on est arrivé à démontrer que l'ion nitrique en était responsable; mais l'ion Bi ne risquait-il pas de l'être lui aussi, et c'est à rechercher le passage de ce Bi métallique dans l'organisme à travers l'épithélium intestinal que nous avons appliqué nos méthodes histochimique et historadiographique de recherches.

La brièveté de ce travail ne nous permet pas de développer les résultats de ces dernières recherches faites dans le laboratoire d'histologie de Monsieur le Professeur TURCHINI à qui nous renouvelons l'expression de notre profonde reconnaissance, d'autres recherches d'ailleurs compléments de ce travail sont actuellement en cours.

Des résultats d'ensemble seront exposés ultérieurement dans un nouveau travail de doctoral en pharmacie.

PROCÉDÉS EXPÉRIMENTAUX DE RECHERCHES

Nous nous proposons d'étudier deux méthodes de détection du bismuth dans l'organisme.

La méthode histochimique ;

La méthode historadiographique.

CHAPITRE I

La méthode histochimique.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE HISTOCHIMIQUE

Cette méthode nous a paru prévaloir sur un grand nombre d'autres employées notamment en toxicologie pour rechercher la trace d'une substance minérale dans les tissus.

Ces méthodes consistent le plus souvent à calciner les tissus jusqu'à disparition complète de la matière organique afin de retrouver dans les cendres ces traces de la matière minérale. Elles peuvent d'ailleurs être utilisées en histochimie où la spodogrammie est de pratique courante.

Puisque nous nous proposons d'étudier en même temps et le métal et le tissu il convenait essentiellement

de respecter les deux et de trouver le moyen de n'altérer en aucune façon l'architecture des tissus à examiner pas plus que la forme sous laquelle le métal pouvait s'être déposé.

Ayant respecté tissus et matière minérale il fallait ensuite mettre en œuvre des réactions spécifiques du métal que l'on était amené à rechercher et non seulement spécifiques mais encore d'une interprétation aisée.

Notre étude s'adressant au bismuth, c'est à une certaine catégorie de réactions propres à ces sels que nous avons donné la préférence :

Les alcaloïdes en présence d'iodure de potassium réagissent sur les sels de bismuth en donnant des précipités vivement colorés qui sont des iodo-bismuthates alcaloïdiques.

Cette réaction appliquée à la détection du Bi nous paraît précieuse parce qu'elle est spécifique du Bi; parce qu'elle est d'une interprétation facile étant donné l'intensité des colorations.

Nous l'avons donc employée dans nos recherches, et nous en exposerons la technique au cours de cette étude.

Après s'être adressé au métal, il fallait s'adresser aux lissus; nous avons donc étudié quels étaient les colorants les plus appropriés et ceux, qui étaient le moins susceptibles de nuire à la sensibilité de la réaction précédente.

Nous dirons ce que nous pensons de ces colorants à propos de l'application de la méthode.

APPLICATION DE LA MÉTHODE HISTOCHIMIQUE
A LA RECHERCHE DU BI
INTRODUIT PAR LA VOIE INTRA-MUSCULAIRE

Choix d'un réactif chimique.

On connaît la propriété des sels de Bi de donner avec certains alcaloïdes, en présence d'iodure de potassium des précipités vivement colorés d'iodobismuthates alcaloïdiques. Nous avons donc préparé des réactifs contenant un alcaloïde lequel en présence du Bi recherché dans les tissus, donnerait la réaction colorée.

Nous avons observé que, le réactif iodocinchonique de LÉGER donne un précipité jaune orangé, avec les composés bismuthiques, mais cette coloration est assez proche de la coloration brun-clair que prennent sur certaines coupes les pigments ferrugineux existant dans les organes tels que rate et foie.

Il ne nous a donc pas paru suffisamment sélectif.

Le réactif iodoquinique d'AUBRY donne avec les sels de fer un précipité brique qui ne permet pas non plus une différenciation suffisante.

Nous avons enfin expérimenté le réactif de CASTEL où la brucine remplace la cinchonine ou la quinine, et c'est celui qui nous a donné les résultats les plus satisfaisants. Notamment la vive coloration jaune orangé obtenue en présence de Bi est aisément reconnaissable

et les causes d'erreur dues aux réactions du fer facilement évitées.

Malgré tout, il faut noter que cette coloration est très fugace, et les coupes doivent être examinées dans les dix minutes qui suivent leur coloration.

Les tissus peuvent ensuite s'accommoder d'une légère coloration au violet de gentiane dilué afin de repérer les éléments cellulaires et mieux localiser le métal recherché.

Préparation du réactif.

Elle demande certaines précautions, et nous pensons bien faire en indiquant celles dont il convient de s'en-tourer pour obtenir le réactif.

Sa formule est la suivante :

Brucine	1 gramme.
I K	2 grammes.
H ² O	100 grammes.

La brucine est dissoute dans la moitié de la quantité d'eau distillée additionnée de trois ou quatre gouttes d'acide sulfurique pur; un léger chauffage facilite la dissolution.

L'I K est dissous dans un peu d'eau distillée, et ajouté à la solution précédente.

On porte à un volume de cc. 100. En agissant autrement le réactif précipite aussitôt.

Stabilité du réactif. — Ainsi préparé le réactif est limpide, d'une légère teinte ambrée, mais en quelques heures il se trouble et l'alcaloïde précipite en partie.

Pour éviter cet inconvénient nous conseillons la préparation extemporanée du réactif (très aisée à réa-

liser comme l'on vient de voir) ou à la rigueur l'addition à ce dernier d'un gramme d'acide citrique qui en augmente la stabilité.

Contrôle du réactif. — Quand on traite une solution d'un sel de Bi par le réactif, ou même une suspension d'un sel de Bi insoluble, on obtient instantanément et à froid, une belle coloration rouge orangé d'iodobismuthate de brucine.

La sensibilité de ce réactif est grande, la moindre trace de Bi est précipitée et cette méthode nous a paru devoir être retenue pour rechercher dans les coupes les particules de Bi qui seraient ainsi vivement colorées et aisément reconnaissables au microscope.

Choix d'un animal d'expérience.

Nous avons choisi le Cobaye.

Un Cobaye de 400 grammes a reçu quotidiennement pendant douze jours en injections intramusculaires faites soit dans les muscles des gouttières vertébrales, soit dans les muscles de la cuisse, le contenu d'une ampoule d'hydroxyde de Bi en suspension huileuse (oléo-Bi).

Chaque ampoule correspondait à 0 gr. 20 de Bi métall. La dose totale a donc été de 2 gr. 40.

L'animal qui a supporté parfaitement toutes les injections, a été sacrifié au douzième jour et nous avons prélevé :

lambeaux de muscle au niveau des points
d'injections;

foie;

rate;

poumon;

reins.

ainsi qu'accessoirement quelques autres organes.

Ces différents fragments d'organes ont été fixés soit dans le formol à 10 p. 100, soit dans le liquide de DUBOSCQ-BRAZIL dont la composition est la suivante :

Alcool à 80°	150 cc.
Formol à 40 p. 100	60 cc.
Acide acétique crist.	15 cc.
Acide picrique	1 cc.

Enfin les coupes ont été faites, soit à la paraffine, soit à la congélation.

Technique de la méthode.

Elle est des plus simples. Les coupes sont traitées successivement par un bain de xylol, puis lavées à l'alcool absolu, puis à l'alcool à 90 degrés, puis à 70 degrés, enfin lavées à l'eau.

Elles sont ensuite immergées dans le réactif pendant deux minutes, enfin un très rapide lavage à l'eau distillée permet d'enlever l'excès de réactif qui quelquefois peut se décomposer sur la lame et donne des dépôts rougeâtres de brucine qui pourraient être confondus avec le précipité bismuthique recherché.

Il n'est pas besoin en général de colorer la coupe, et un œil exercé repère facilement les éléments cellulaire de chaque organe et la localisation du précipité d'iodobismuthate de brucine.

Notons que la coloration à l'hématéine fait passer très rapidement la coloration recherchée du Bi. Tout au plus faut-il se contenter d'une éosine légère ou de violet de gentiane ayant agi pendant une demi-minute.

Nous procéderons dans le chapitre suivant à l'exposé de nos recherches sur les tissus du Cobaye ainsi traité par le Bi intramusculaire, et indiquerons chemin faisant l'interprétation que nous avons cru devoir donner à chacun de nos examens.

Examen d'une coupe de tissu musculaire.

Le Bi injecté sous forme d'hydroxyde en suspension huileuse, séjourne longtemps au point d'injection.

Déjà, macroscopiquement, nous avons pu nous rendre compte qu'un amas du produit injecté était resté dans le muscle.

Aussi la coupe traitée par le réactif donne-t-elle une coloration très vive en certains points, visibles facilement à l'œil nu.

Au microscope, on note que le Bi vivement coloré existe en nappes abondantes entre les fibres musculaires.

Il se localise aussi à ce niveau, dans les endothéliums des vaisseaux, dans quelques polynucléaires, et surtout dans le protoplasme d'éléments monocytaires se rattachant au système réticulo-endothélial.

Examen d'une coupe de rate.

Les coupes de rate sont particulièrement démonstratives.

Les granulations bismuthiques fortement colorées d'un rouge orangé sont très nombreuses.

Elles sont de formes arrondies à contours bien nettement délimités de colorations égales entre elles, mais de dimensions assez variables.

On remarque qu'elles sont disséminées dans la pulpe rouge au niveau des éléments du système réticulo-endothélial des sinus et des cellules réticulaires des cordons de Billroth.

La différenciation est à faire avec les pigments ferrugineux.

Nos coupes ont été traitées par le ferrocyanure de potassium, mais les éléments ferrugineux de la rate ne donnent pas en présence de ce réactif les réactions du fer (ce qui nous aurait permis de reconnaître aisément les granulations ferrugineuses colorées en bleu).

Les pigments ferrugineux peuvent cependant être reconnus avec un peu d'habileté.

Leur coloration passe très rapidement au marron foncé, alors que les grains de Bi gardent une teinte rouge orangé caractéristique pendant quelques minutes.

Notons l'intérêt de l'examen de la coupe peu de temps après sa coloration. Il nous faut encore signaler d'autre part la présence d'ocrococytes, éléments colorés par eux-mêmes et que l'on peut repérer si l'on a pris soin d'examiner auparavant la coupe sans coloration.

Examen d'une coupe de foie.

Le foie est infiniment moins riche en dépôts bismuthiques que la rate. Les cellules hépatiques n'en renferment pas; les cellules de Kupffer par contre en contiennent et parfois même en sont bourrées.

Examen d'une coupe de rein.

Le rein élimine le Bi, mais cette élimination n'est pas régulière; elle se fait plutôt par décharges.

Le métal a pu être retrouvé au niveau des tubes contournés, des branches ascendantes des anses de HENLE et des segments intermédiaires du rein.

Dans les coupes que nous avons examinées il ne nous a été possible de retrouver des traces de Bi qu'au niveau des tubes contournés.

Examen du poumon, des glandes salivaires et du thymus.

Le poumon prend lui aussi une certaine part à la fixation du Bi et le nombre des petites cellules nucléées montrant des grains d'iodobismuthate est assez élevé.

Enfin, il est encore possible de retrouver des traces de Bi dans les glandes salivaires et même dans le thymus.

**APPLICATION DE LA MÉTHODE HISTOCHIMIQUE
A LA DÉTECTION DU BI MÉTAL
INTRODUIT PAR LA VOIE DIGESTIVE**

Tout naturellement la précision et la constance des réactions histochimiques que nous venons de décrire devait nous amener à l'appliquer à la recherche du Bi introduit par des voies différentes.

En dehors de la voie intramusculaire (traitement antisyphilitique) le Bi n'est employé que par la voie digestive en thérapeutique gastro-intestinale.

Nous avons mentionné dans notre introduction les défaillances de nos connaissances thérapeutiques en ce qui concerne le mode d'action du Bi sur l'épithélium gastro-intestinal.

Aussi nous ne chercherons pas dans cette étude à élucider le mécanisme de cette action.

De tels travaux ont été cependant poursuivis par nous-même dans le laboratoire d'histologie de la faculté de médecine mais ne figureront pas dans cette étude où nous avons uniquement en vue d'exposer la valeur des méthodes et leurs possibilités d'applications aux diverses recherches.

Nous pensons que la méthode histochimique peut être utilisée pour rechercher quelle peut être la destinée du Bi métal ingéré sous forme de sel insoluble (sous-nitrate) à travers l'organisme.

Et nous poserons simplement le problème dont les résultats seront donnés ultérieurement dans un nouveau travail.

A l'aide de la méthode histochimique nous nous proposons :

De rechercher le Bi déposé à la surface de l'épithélium intestinal et d'apprécier la qualité, la régularité du tapissage de cet épithélium ;

De rechercher quelles sont les modifications que peuvent faire subir les sucs digestifs à ce tapissage et en combien de temps l'imprégnation de la muqueuse se modifie.

Cela doit pouvoir nous permettre de nous faire une opinion sur la qualité de cette imprégnation et de là nous autoriser à poursuivre des recherches sur les imprégnations de muqueuses digestives par les sels insolubles de Bi.

Nous pensons pour notre part, que si cette imprégnation est bien régulière, il n'y a plus de raison pour qu'en radiologie on ne revienne pas au Bi dans les examens de muqueuse (couche mince) étant donné l'opacité aux rayons X du Bi nettement plus grande que celle du Baryum couramment employé.

Il n'est pas impossible que l'on puisse obtenir dans cet ordre de chose des contrastes meilleurs.

Rappelons que le poids atomique du Bi est de 208 tandis que celui du baryum n'est que de 137.

Enfin la méthode histochimique doit pouvoir nous permettre de savoir si certaines quantités de Bi métal passent ou ne passent pas à travers la couche de mucus, autrement dit si une petite quantité du Bi n'est pas absorbée par les cellules glandulaires de l'intestin.

Tels sont les quelques problèmes au sujet desquels nos recherches se poursuivent.

Nous voulons seulement exprimer ici notre confiance dans la méthode histochimique pour les résoudre.

Nous indiquerons cependant la technique employée dans ce but et les modifications personnelles que nous avons fait subir à la technique précédemment étudiée.

Principe de la méthode.

Il reste le même.

Nous employons les réactions colorées des alcaloïdes sur le Bi en présence d'iodure de potassium.

Choix du réactif.

Les causes d'erreur que nous avons notées au chapitre précédent et qui sont constituées surtout par la présence de métaux autres que le Bi sont négligeables ici.

Nous avons employé indifféremment le réactif iodo-brucinique de CASTEL et le réactif iodoquinique dont la formule est :

Sulfate de quinine	1 gr.
I K	2 gr.
Eau distillée	100 gr.

et nous ajoutons à ce réactif :

Acide citrique	2 gr.
----------------------	-------

Nous préférons pour notre part ce réactif au précédent, pour l'étude des coupes qui intéressent les parties hautes du tube digestif (estomac, duodénum)

La coloration est des plus vives, peut-être plus nette que la réaction produite par la brucine.

En outre le réactif est plus stable et d'un prix de revient moins élevé.

Dans les coupes intéressant les parties basses de l'intestin nous mentionnerons que le réactif agit moins bien. A ce niveau en effet le Bi est passé à l'état de sulfure noir et la coloration est peu visible.

On peut donc se dispenser de colorer les coupes d'intestin, les grains de Bi étant susceptibles d'apparaître spontanément en noir sous le microscope.

Choix de l'animal.

Ici nous avons choisi des Lapins de quatre kilos beaucoup moins sensibles que le Cobaye.

Nous avons fait absorber à l'animal à l'aide d'un ouvre-bouche métallique et d'une petite sonde en caoutchouc des doses croissantes de sous-nitrate de Bi.

Nous avons commencé par des doses de 4 gr. augmentées quotidiennement et progressivement jusqu'à atteindre 25 grammes au douzième jour.

On voit donc que ces doses ont pu atteindre et dépasser cinq grammes par kilo d'animal. Notons que l'animal n'a pas succombé avant la fin de l'expérience. Celui-ci a été ensuite sacrifié quatre heures après la dernière ingestion de sous-nitrate de Bi laquelle a été donnée, l'animal étant à jeun depuis huit heures.

Cela a été fait afin d'étudier le mode de tapissage de la muqueuse digestive par le sel de Bi et de déterminer l'influence des sécrétions sur ce tapissage.

Prélèvement et examen des pièces.

Nous avons prélevé les organes suivants :

Estomac, région pylorique et région fundique;
Duodénum;
Jéjunum;
Colon;
Foie;
Rate;
Rein,

et nous avons adopté la même technique en ce qui concerne leur fixation : liquide de DUSBOSQ-BRAZIL et formol à 10 p. 100.

Très brièvement résumées voici les conclusions que nous avons pu faire :

Pour l'estomac; tapissage régulier de toute la muqueuse gastrique, fixation parfaite et incorporation du Bi à la couche muqueuse mais pas de pénétration au-delà, la couche de mucus paraît réaliser une barrière infranchissable par la substance minérale.

Pour le duodénum; tapissage parfait de l'épithélium.

Légère absorption au niveau des cellules en rapport avec la lumière intestinale.

Ce fait peut s'expliquer par la solubilisation d'une petite partie du Bi à l'état de chlorure par le suc gastrique.

Pour le jéjunum tapissage moins égal, moins régulier, exfoliation de l'épithélium mais toujours pas d'absorption au niveau des glandes.

Pour le foie et pour la rate pas de traces de Bi; ce qui nous laisse à penser que l'absorption au niveau

de la muqueuse intestinale peut être considérée comme presque nulle.

Nous nous réservons de faire un contrôle historadiographique sur des coupes de rate et de foie pour confirmer notre opinion.

Nous sommes très brefs à dessein sur les résultats de ces recherches. Nous donnons seulement les conclusions de nos observations.

Pour nous le Bi ne passe qu'en quantité minime et absolument négligeable au point de vue toxicologique.

Cependant nous nous réservons de développer ces résultats, du point de vue histologique et de montrer le rôle défensif de la muqueuse gastro-intestinale contre certaines substances toxiques insolubles.

Toutes ces recherches seront d'ailleurs développées et complétées dans un nouveau travail (thèse de doctorat en pharmacie) auquel le lecteur pourra se reporter.

CHAPITRE II

La méthode historadiographique.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La méthode consiste à préparer des historadiogrammes c'est-à-dire des images de coupes histologiques obtenues sur un film et à interpréter ces images.

L'historadiographie a eu ses précurseurs.

Goby parvint en 1923 à obtenir des radiographies de petits objets.

DAUVILLIERS quelques années plus tard réussit à faire de la microradiographie sur des cellules végétales.

Mais l'historadiographie, c'est-à-dire la microradiographie a été réellement mise au point par le Professeur LAMARQUE et largement appliquée à l'histologie par le Professeur TURCHINI.

Pour réaliser cette méthode, deux problèmes devaient d'abord être résolus.

L'un d'ordre photographique,

L'autre d'ordre radiologique.

Le problème photographique consistait à réaliser une plaque ou un film enduits d'une émulsion impressionnable par les rayons; émulsion dont les grains seraient assez fins pour constituer par leurs diffé-

rences d'impressions c'est-à-dire de teintes des images assez facilement lisibles.

Il est évident qu'avec les grains grossiers des émulsions ordinaires du commerce on ne pouvait interpréter des images qu'à partir d'une certaine grosseur, il eut donc été difficile de réaliser la lecture d'une coupe histologique.

Il a donc été employé les émulsions les plus fines connues jusqu'à ce jour, émulsions de LIPPMANN mais comme ces émulsions sont aussi les moins sensibles, la prise des clichés devait nécessiter un temps de pose assez prolongé.

Le problème radiologique consistait à déterminer la qualité des rayons à employer et le moyen de les produire.

Les essais effectués ont montré qu'il était nécessaire d'utiliser des rayons très mous.

Pour les obtenir il fallait employer des tensions faibles inférieures à 10.000 volts.

C'est avec des tensions variant entre 1.000 et 5.000 volts que les images les mieux contrastées ont pu être obtenues.

Matériel.

Mais pour réaliser un tel ensemble de conditions il était nécessaire d'une part, de faire préparer des films sensibles à l'aide d'émulsions fines spéciales et d'autre part, il fallait un matériel radiographique particulier.

A des tensions aussi faibles les rayons émis par une ampoule ordinaire étaient arrêtés par les parois.

Pour éviter cet inconvénient il a été réalisé un tube démontable dans lequel le vide pouvait être très poussé

mais portant des fenêtres obturées seulement par une fine lamelle de lithium, métal extra-léger, ce qui permettait d'arrêter les rayons lumineux et de laisser passer les rayons X émis dans le tube.

Nous ne développerons pas davantage la description de l'appareil et des résultats de cette technique que le lecteur pourra retrouver dans les diverses communications faites par M. LAMARQUE et M. TURCHINI sur cette question et sur les améliorations que ces auteurs ne cessent d'apporter à la technique ou à son emploi.

Technique de la méthode.

Elle est alors théoriquement assez simple.

Les coupes sont faites aussi fines que possible, à la congélation.

Elles sont placées sans aucune coloration et encore humides sur une lame de verre. De là, elles sont portées dans la chambre noire et appliquées à la surface du film sensible.

Dès lors, il suffit de réaliser le vide dans l'appareil et de prendre le cliché. Le temps de pose doit être assez prolongé étant donné la faible sensibilité des émulsions photographiques employées, ensuite, le film est développé, la petite partie impressionnée est découpée et portée contre lame et lamelle, afin d'être examinée comme une simple coupe histologique.

Intérêt de la méthode.

Cet exposé volontairement succinct et incomplet du principe de la méthode était cependant indispensable.

Il nous permettra maintenant de comprendre pourquoi la méthode peut s'adapter aussi parfaitement à

la recherche dans un tissu de particules métalliques aussi opaques aux rayons X que les sels de bismuth.

En effet, si les auteurs sont arrivés à produire des historadiogrammes où les images cellulaires sont parfaitement contrastées alors que les différences d'opacités des divers points des tissus ne sont en somme pas très grandes, ils devaient pouvoir obtenir des contrastes parfaitement nets en examinant des tissus dans lesquels se trouvaient des particules de métaux lourds.

Là, plus de causes d'erreurs, plus de risques de confondre le métal Bi avec d'autres formations cellulaires de coloration semblable.

Le métal est ici parfaitement opaque aux rayons X et si nous avons voulu montrer la valeur de l'historadiographie dans la détection du Bi à travers l'organisme c'est que cette méthode prend une valeur considérable du fait qu'elle représente un moyen de contrôle sûr et extrêmement précieux de la méthode histochimique.

Nous pensions donc que la méthode présente un très grand intérêt scientifique et nous avons été satisfait de la trouver dans les cas où la méthode histochimique n'avait pas donné de résultats suffisamment concluants.

**APPLICATION DE LA MÉTHODE
HISTORADIOGRAPHIQUE A LA RECHERCHE DU BI
INTRODUIT DANS L'ORGANISME
PAR LA VOIE INTRA-MUSCULAIRE**

Les historadiogrammes obtenus avec les coupes suivantes ont donné les résultats superposables à ceux de l'histochimie.

Dans la rate où elles sont très nombreuses, on voit les granulations blanches, dues à l'opacité du bismuth, disséminées dans la pulpe rouge au niveau des éléments du système réticulo-endothélial des sinus et des cordons de Billroth.

Il nous était parfois difficile de différencier pigments ferrugineux, ocytes et granulations bismuthiques. Dans les historadiogrammes, seules les granulations de Bi apparaissent très franchement.

Dans le foie, les granulations sont beaucoup moins nombreuses, on les trouve exclusivement au niveau des cellules de Kupffer.

Dans le rein où les grains de bismuth sont assez irrégulièrement éliminés, il a été possible de repérer cependant les particules métalliques au niveau des tubes contournés, des branches ascendantes des anses de Henle et des segments intermédiaires.

APPLICATION DE LA MÉTHODE HISTORADIOGRAPHIQUE A LA DÉTECTION DU BI INTRODUIT PAR LA VOIE DIGESTIVE

Ces recherches sont actuellement en cours.

Au niveau de l'estomac la méthode histochimique nous a montré que le bismuth ingéré sous forme de sous-nitrate, tapisse parfaitement la muqueuse et que l'absorption est absolument nulle.

La radiographie de la zone des glandes gastriques nous montrera si en aucun point les particules du métal lourd n'ont pénétré.

Au niveau du duodénum, nous pensons qu'il existe une légère absorption de bismuth solubilisé par le suc gastrique à l'état de chlorure de Bi. L'histochimie nous permet de voir certaines cellules imprégnées de bismuth à ce niveau.

L'historadiographie nous permettra de contrôler si dans les mêmes cellules existent des zones nettement opaques.

Enfin au niveau des organes tels que rate et foie, nous n'avons pas trouvé par la méthode histochimique de traces de Bi. Des historadiogrammes seront pratiqués afin de vérifier si la première méthode n'a pas eu de défaillance et nous permettront alors de savoir à coup sûr si le bismuth métal ingéré sous forme de sous-nitrate est ou n'est pas passé à travers l'épithélium intestinal.

C'est le problème que nous désirions poser dès aujourd'hui.

Nous renouvelons au lecteur que les recherches tendant à le résoudre sont actuellement en cours dans le laboratoire de Monsieur le Professeur TURCHINI.

Les résultats d'ensemble en seront exposés dans un travail ultérieur qui fera, comme nous l'avons dit, l'objet d'un nouveau travail.

CONCLUSIONS

En vue de suivre le bismuth introduit expérimentalement dans l'organisme par voie intra-musculaire ou digestive, nous avons précisé l'emploi de la méthode histochimique dans la recherche de ce métal ainsi que celui de la méthode historadiographique tout récemment utilisée dans les mêmes buts.

Nous avons notamment utilisé les réactions histo-chimiques à la brucine mises au point par CASTEL et indiqué leur intérêt et leur valeur dans la détection du bismuth. Nous avons essayé en outre d'apporter notre contribution personnelle à l'amélioration de ces techniques et à l'interprétation des résultats.

Nous avons adopté plus particulièrement certains réactifs à certains ordres de recherches. Le réactif iodobrucinique à la recherche du Bi dans la rate ou le foie où il permet d'éviter les causes d'erreurs dues au fer; le réactif iodoquinique à l'étude du lapissage intestinal par le Bi où la cause d'erreur précédemment citée n'existe pas. Nous avons précisé la technique des colorations en signalant certains points de détail technique susceptibles de mener à bien leur exécution.

La technique historadiographique nous a été d'un appui appréciable nous permettant le contrôle de la précédente méthode.

Les possibilités de cette technique ne se limitent pas à ce que nous avons écrit et sont susceptibles de trouver de nouvelles applications dans les domaines de l'Histophysiologie, l'Anatomie pathologique, la Pharmacologie et même la Médecine légale.

BIBLIOGRAPHIE

AUBRY. — Recherche du Bismuth dans les humeurs, *Société de Pharmacie de Paris*, 9 novembre 1921.

BARDET. — Les iodobismuthates alcaloïdiques. *Thèse Paris*, 1923.

BEUSAUDE et AGASSE-LAFONT. — Intoxication par le sous-nitrate de Bismuth administré à l'intérieur. *Archives des maladies de l'appareil digestif*, t. III, pp. 13, 34, 1909.

CASTEL. — Contribution à l'étude histochimique de la localisation de certaines substances médicamenteuses ou toxiques. *Thèse Pharm. Sup.*, Montpellier, 1935, 90 p., 1 pl.

CASTEL, LAMARQUE, TURCHINI. — Historadiographie et localisation histologique de substances médicamenteuses ou toxiques à poids atomique élevé. *C. R. de la Société de Biologie*, 12 décembre 1936, t. 123, pp. 1051-1052.

CHRISTIANSEN, HEVESY et LOMHOLT. — Recherches par une méthode radiochimique sur la circulation du Bismuth dans l'organisme, *C. R. Académie des Sciences*, t. CLXXVIII, pp. 1324-1326 ; 1924.

DEBAURE. — Le Bismuth dans l'organisme. *Méd. internat.*, t. XXXIII, p. 47 ; 1925.

CALLIOT A. — Le sort du Bismuth insoluble dans l'organisme. *Bull. Soc. Méd. de Paris*, 25 février 1928.

LAMARQUE. — Historadiographie. *C. R. de l'Académie des Sciences*, 10 février 1936, t. 202, pp. 684-685.

LAMARQUE et TURCHINI. — Les progrès accomplis en historadiographie. *Languedoc médical*, décembre 1938, pp. 471-488, 7 fig.

LAMARQUE, TURCHINI, CASTEL. — De la localisation de certaines substances médicamenteuses ou toxiques (Bi et As) par la technique de l'Historadiographie. *C. R. du 60^{me} Congrès de l'Ass. fr. pour l'av. des sc.*, Marseille, 16 juillet 1936, pp. 272-273.

LAMARQUE. — Une nouvelle méthode d'utilisation des rayons X : l'Historadiographie. *Montpellier médical*, février 1937, 3^{me} série, t. 11, pp. 47-68, 12 fig.

TURCHINI. — De quelques applications à l'Historadiographie intéressant plus spécialement les sciences médicales. *Montpellier médical*, février 1937, 3^{me} série, t. II, pp. 25-33, 8 fig.

En ma qualité de Censeur de tour, j'ai lu la Thèse ayant pour titre :

De la détection histo-chimique et historadiographique du bismuth introduit expérimentalement dans l'organisme par M. IMBERT (RENÉ-JEAN-AUGUSTE).

Je pense que la Faculté peut en permettre l'impression.

Montpellier, le 9 novembre 1939.

Le Professeur,
TURCHINI.

Vu :

Montpellier, le 9 novembre 1939.

Le Doyen,
EUZIÈRE.

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 9 novembre 1939.

Le Recteur,
PARISELLE.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
INTRODUCTION.....	9
PROCÉDÉS EXPÉRIMENTAUX DE RECHERCHES	13
CHAPITRE PREMIER. — Méthode histochimique.....	13
<i>a</i>) Principes de la méthode histochimique	13
<i>b</i>) Application de la méthode histochimique à la recherche du Bi introduit par la voie intra- musculaire.....	15
Choix des réactifs.....	15
Préparation du réactif.....	16
Choix d'un animal d'expérience	17
Technique de la méthode	18
Examens histologiques; résultats obtenus.	19
<i>c</i>) Application de la méthode histochimique au bismuth introduit par la voie digestive.....	22
Choix du réactif.....	24
Choix de l'animal.....	25
Relèvement et examen des pièces.....	26
CHAPITRE II. — Méthode historadiographique.....	28
<i>a</i>) Principe de la méthode.....	28
Technique.....	30
<i>b</i>) Application de la méthode à la recherche du Bi introduit par la voie musculaire.....	32
<i>c</i>) Application de la méthode à la recherche du Bi introduit par la voie digestive.....	33
CONCLUSIONS.....	35
BIBLIOGRAPHIE	37

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!
